



## II - 513 - AVALIAÇÃO DO TRATAMENTO DE ESGOTO DOMÉSTICO PÓS-TRATADO POR UASB E PRODUTIVIDADE DE LIPÍDIOS DE CARÁTER ENERGÉTICO EM LAGOA DE ALTA TAXA SOB REGIME DE BATELADA SEQUENCIAL

**Paulo Henrique da Silva<sup>(1)</sup>**

Químico Industrial pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Mestrando em Engenharia Civil com ênfase em Tecnologia Ambiental pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

**Bianca Lacerda de Macedo<sup>(2)</sup>**

Engenheira Civil pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). Mestranda em Engenharia Civil com ênfase em Tecnologia Ambiental pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

**Érika Virgínia da Silva Lima<sup>(3)</sup>**

Graduanda em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

**Bruna Scandolara Magnus<sup>(4)</sup>**

Engenheira Sanitária e Ambiental, Mestra e Doutora em Engenharia Ambiental pela Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Professora Adjunta do Departamento de Engenharia Civil e Ambiental – Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

**Maria de Lourdes Florencio dos Santos<sup>(5)</sup>**

Engenheira Civil pela Universidade Federal de Pernambuco; mestra em Engenharia Civil (Hidráulica e Saneamento) pela Universidade de São Paulo (USP); Doutora em Ciências Agrícola e Ambiental pela Universidade de Wageningen. Professora titular do Departamento de Engenharia Civil e Ambiental – Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

**Endereço:** Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901- Brasil - Tel: (81) 99656-7784 - e-mail: paulo.hsilva3@ufpe.br

### RESUMO

O cultivo de agregados microalga-bactéria (AMAB) em lagoas de alta taxa (LAT) representa uma fonte promissora de biomassa facilmente sedimentável, rica em lipídios de caráter energético e que pode ser associada ao tratamento de esgotos. A operação de AMAB sob batelada sequencial pode representar uma alternativa operacional interessante, embora ainda careça de dados a respeito da eficiência do tratamento, produção algal e acúmulo lipídico. Diante disso, foi avaliada uma LAT em escala piloto de 8 m<sup>2</sup> em batelada sequencial com agregados AMAB e alimentada com esgoto doméstico pós-tratado por UASB ao longo de 151 dias que se sucederam à 20 dias de formação dos AMAB. Investigou-se a remoção de nitrogênio, fósforo e DQO, acúmulo de sólidos, distribuição de gênero algais, perfil lipídico obtido a partir de 3 diferentes metodologias de extração de óleos e seu desempenho como biodiesel com base no número de cetano e valor de iodo. Observou-se que dos dias 66 a 128 da operação em batelada sequencial, houve em torno de 80% de predominância de *Cyclotella* sp. As evidências levam a crer que os ciclos de mistura ativa suspenderam esse gênero diatomáceo bentônico, capaz de assimilar mais bicarbonato presente no esgoto que *Desmodesmus* sp., suas competidoras contemporâneas. A remoção de nitrogênio amoniacal, nitrogênio orgânico, fósforo total e demanda química de oxigênio ao longo dos 151 dias de operação em batelada ficou em 85,6 ± 5,6 %; 65,0 ± 7,2 %; 36,2 ± 6,9% e 55,6 ± 12,4 %, respectivamente. O recorte dos dias 66 a 128, de maior estabilidade, apresentou ganhos em todos os parâmetros, a saber: 92,5 ± 1,8 %; 66,80 ± 1,8 %; 41,98 ± 6,7 %; 66,6 ± 7,6 %. Porém, a lagoa apresentou aumento na concentração de nitrato de 0,07 ± 0,03 para 13,96 ± 4,95 mg.L<sup>-1</sup> com relação ao afluente, dando indícios de crescimento de bactérias nitrificantes que, em contrapartida, em associação com *Cyclotella* sp., permitiu à lagoa atingir níveis de pH estabilizados. Por fim, apesar da extração com metodologia Soxhlet demonstrar maior rendimento bruto, as extrações por Folch; Lees; Stanley (1957) e Bligh e Dyer (1957) foram capazes de extrair 2 vezes mais ácidos graxos, gerando um biodiesel com número de Cetano 44,9 e 56, respectivamente, atendendo com folga a padrões brasileiros de qualidade.

**PALAVRAS-CHAVE:** Microalga, Bactéria, Batelada sequencial, Tratamento de Esgoto, Produção de Biodiesel.



## INTRODUÇÃO

A escassez de petróleo e as emissões de gases de efeito estufa na queima de combustível fóssil têm demandado uma dramática busca por fontes de energia renováveis. Possíveis candidatos, os biocombustíveis de primeira e segunda geração se encontram mais facilmente à disposição ao custo de necessitarem de terras aráveis ou processos complexos de produção. Em contrapartida, microalgas figuram como matérias-primas da terceira geração, incluindo bioetanol, biogás, biohidrogênio, bio-óleo e biodiesel, além de apresentarem vantagens competitivas interessantes (Okeke *et al.*, 2022).

Microalgas são organismos autotróficos, fotossintetizantes e cosmopolitas que produzem uma biomassa rica em triacilgliceróis, lipídios de armazenamento que podem ser transformados em biodiesel via transesterificação. Os metil ésteres de ácidos graxos (FAMES) formados atendem a padrões europeus de qualidade, emitem menos NO<sub>x</sub> e material particulado e promovem um ciclo fechado do carbono por meio da fotossíntese, que sequestra o carbono emitido (Tüccar e Aydin, 2013; Sun *et al.*, 2023). Um importante fator de avaliação do biodiesel algal e diesel em geral é o número de cetano (NC), valor que expressa de maneira inversamente proporcional, de 0 a 100, o atraso e a pressão para a ignição do combustível. No Brasil, a Agência Nacional de Petróleo, Gás e Biocombustíveis (ANP) preconiza um valor mínimo de NC de 42 para o diesel s500 (ANP, 2023).

É consenso que a viabilidade do biodiesel algal necessita do barateamento da matéria-prima, isto é, o meio de cultura. A alta demanda de nutrientes pelas microalgas pode ser atendida por efluentes domésticos, associando a produção de bioenergia à remediação da poluição hídrica. Além disso, sistemas de produção baratos e de fácil operação, como é o caso das Lagoas de Alta Taxa (LAT), são essenciais para a operação em países em desenvolvimento (Chandra *et al.*, 2019).

Entretanto, as altas cargas celulares nas paredes celulares das microalgas dificultam a floculação e sedimentação da biomassa (Soroosh; Otterpohl; Hanelt, 2022), tornando a colheita algal a etapa mais onerosa do processo produtivo (Brennan; Owende, 2010; Mata; Martins; Caetano, 2010). O cultivo simultâneo com bactérias aeróbias otimiza a sedimentação pela ação de polímeros catiônicos que coalescem as células, originando os agregados microalga-bactéria (AMAB). O consórcio formado tem a capacidade de trocar gases O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>, fitohormônios, vitaminas e outros, favorecendo o crescimento, consumo e troca de nutrientes e proteção contra agentes externos (Dos Santos Neto *et al.*, 2021).

O cultivo de AMAB em LAT comumente faz uso do fluxo de alimentação contínuo. Apesar de pouco estudada, a operação em batelada sequencial pode acelerar a remoção de nutrientes e matéria orgânica em sistemas algais, como é o caso das lagoas de transbordo (Albuquerque; Santos; Haandel, 2021). O estudo de Van Den Hende *et al.* (2014), um dos raros a aplicar a operação em batelada sequencial em lagoas de alta taxa, utilizou esgoto de criação de peixes, permanecendo a dúvida quanto ao comportamento frente a esgotos domésticos. É perceptível a existência de lacunas na literatura quanto à produtividade e tratamento algais em LAT sob regime de batelada sequencial tendo como subproduto principal os lipídios, matéria-prima do biodiesel.

Portanto, o presente trabalho teve como objetivo verificar o desempenho de uma lagoa de alta taxa (LAT) em escala piloto sob regime de batelada sequencial para a produção de agregados microalga-bactéria com vistas ao tratamento do esgoto e produção de lipídios de caráter energético. Para isso, buscou-se: (i) Formar agregados microalga-bactéria, verificar a estabilidade dos flocos e estudar as dinâmicas de gêneros algais; (ii) Verificar o tratamento do esgoto e o comportamento dos parâmetros físico-químicos de maior interesse diante da condição de batelada sequencial; (iii) Aplicar metodologias diversas de extração de lipídios à biomassa resultante de maneira a avaliar teor e perfis lipídicos de maior interesse à produção de biocombustíveis, bem como seu desempenho por meio do número de Cetano e valor de iodo.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho focou no tratamento de esgoto doméstico pós-tratado por UASB e produtividade de lipídios em uma LAT em escala piloto localizada na ETE-Manguieira, na zona metropolitana do Recife. As dimensões incluem: 8 m<sup>2</sup> de área superficial, 6 m de comprimento, 0,7 m de altura total, 0,3 m de altura de lâmina d'água e volume

útil 2,4 m<sup>3</sup>, além de 6,8 RPM de rotação da hélice. A ETE-Mangueira recebe esgoto doméstico dos bairros da Mustardinha, Mangueira e San Martin e possui um tratamento preliminar, seguido de reator UASB e lagoa de polimento.

No dia 0, a LAT recebeu esgoto pós-UASB e inóculo de lodos ativados a uma concentração 180 mgSSV.L<sup>-1</sup> (Sátiro, 2021) ao que permaneceu sob agitação e sem receber alimentação por 20 dias a fim de promover a formação dos agregados alga-bactéria (Fase 1). Verificada a formação do AMAB, se iniciou a fase de operação em batelada sequencial (Fase 2), com um tempo de detenção hidráulica de 4 dias, em que a cada 2 dias era cessada a agitação por 30 minutos, retirava-se 50% do volume da lagoa a partir do sobrenadante, alimentava-se a lagoa com mais 50% de esgoto e retomava-se a agitação. Esta fase durou 151 dias.

Durante a Fase 1, a biomassa foi monitorada por microscopia, estimando a abundância relativa (Dos Santos Neto *et al.*, 2021), sólidos suspensos voláteis, nitrogênio amoniacal, NTK, fósforo total e Demanda química de oxigênio (DQO) (APHA, AWWA e WEF, 2012), nitritos e nitratos por cromatografia iônica, análises de material polimérico extracelular (EPS) do tipo proteína e carboidrato (Arcila; Buitrón, 2017) e clorofila-a (Leong *et al.*, 2018). Este monitoramento foi realizado a cada 3 dias, aproximadamente.

Na fase 2, no primeiro dia útil de troca volumétrica de cada semana, o esgoto afluyente (AF) era coletado. Na troca posterior, amostras do liquor misto (LM) e efluente (EF) da lagoa eram coletados. O esquema de coleta é ilustrado na figura 1, abaixo. Realizaram-se as mesmas análises físico-químicas descritas para a fase 1, exceto EPS, e a subtração das concentrações de AF e EF representaram o tratamento empreendido. No dia 134 foi realizada uma análise de perfil de gênero de zooplânctons por meio da preparação segundo (Brandão *et al.*, 2011) e identificação em microscópio. Por fim, monitoraram-se os parâmetros in situ de pH e OD com sonda multiparâmetros HACH®.

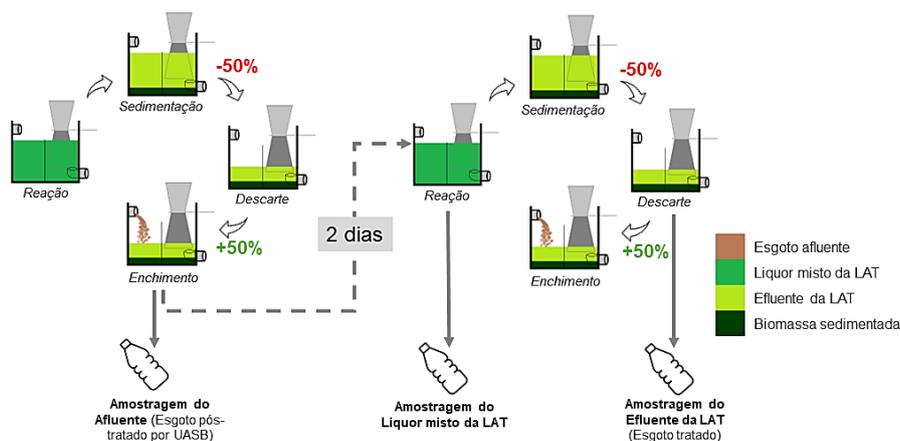


Figura 1 – Esquema de coleta semanal das amostras durante a Fase 2 do experimento.

A biomassa em pó foi obtida do liquor misto (LM) por centrifugação e secagem a 40 °C por 24h. O remanescente foi pulverizado em micromoinho Willye até diâmetro máximo de 30 mesh. O pó foi extraído em soxhlet com solução clorofórmio:metanol 2:1 (SO) (Halim *et al.*, 2011) e extrações líquido-líquido segundo Bligh e Dyer (1957) (BD) e Folch, Lees e Stanley (1957) (FO). Os extratos foram analisados por gravimetria a fim de estimar os lipídios totais e, posteriormente, transesterificados por catálise ácida e metanol segundo (Halim *et al.*, 2011). A análise do biodiesel se deu em cromatógrafo gasoso com detector FID a partir de padrões de FAMES Merck®. O perfil de metil ésteres de ácidos graxos das amostras foram utilizados para a estimativa do número de cetano do biodiesel produzido por meio da metodologia de Wu e Miao (2014), que consiste nas equações 1, 2 e 3, abaixo:

$$VS = \sum \frac{560N}{M} \quad \text{Equação (1)}$$



$$VI = \sum \frac{254DN}{M}$$

Equação (2)

$$NC = 46,3 + \frac{5458}{VS} - (0,255 \times VI)$$

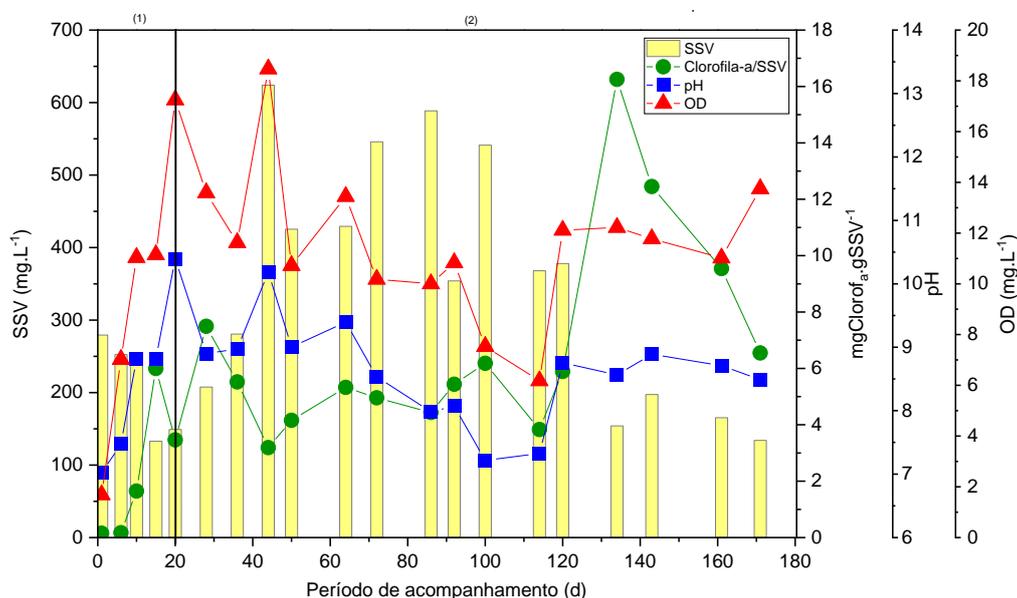
Equação (3)

onde M é a massa molecular, D é o número de ligações duplas e N é a porcentagem de cada ácido graxo no biodiesel.

Além disso, VS é o valor de saponificação, medida do peso molecular do conjunto de ácidos graxos como função da saponificação da amostra. VI é o valor de iodo, estimativa da quantidade de ligações duplas na cadeia lipídica, sítios que são atacados por oxidantes e geram instabilidade no biodiesel. Medido em  $\text{gI}_2 \cdot 100\text{g}^{-1}$ , tanto melhor quanto menor for o valor de VI, tendo como padrão europeu um máximo de  $120\text{gI}_2 \cdot 100\text{g}^{-1}$ . Por fim, NC é o número de cetano, valor estimado com base em uma mistura de hexadecano, NC igual à 100, e 2,2,4,4,6,8,8-heptametilnonano de NC igual à 15, e que quanto maior, melhor o desempenho do diesel (Wu e Miao, 2014).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

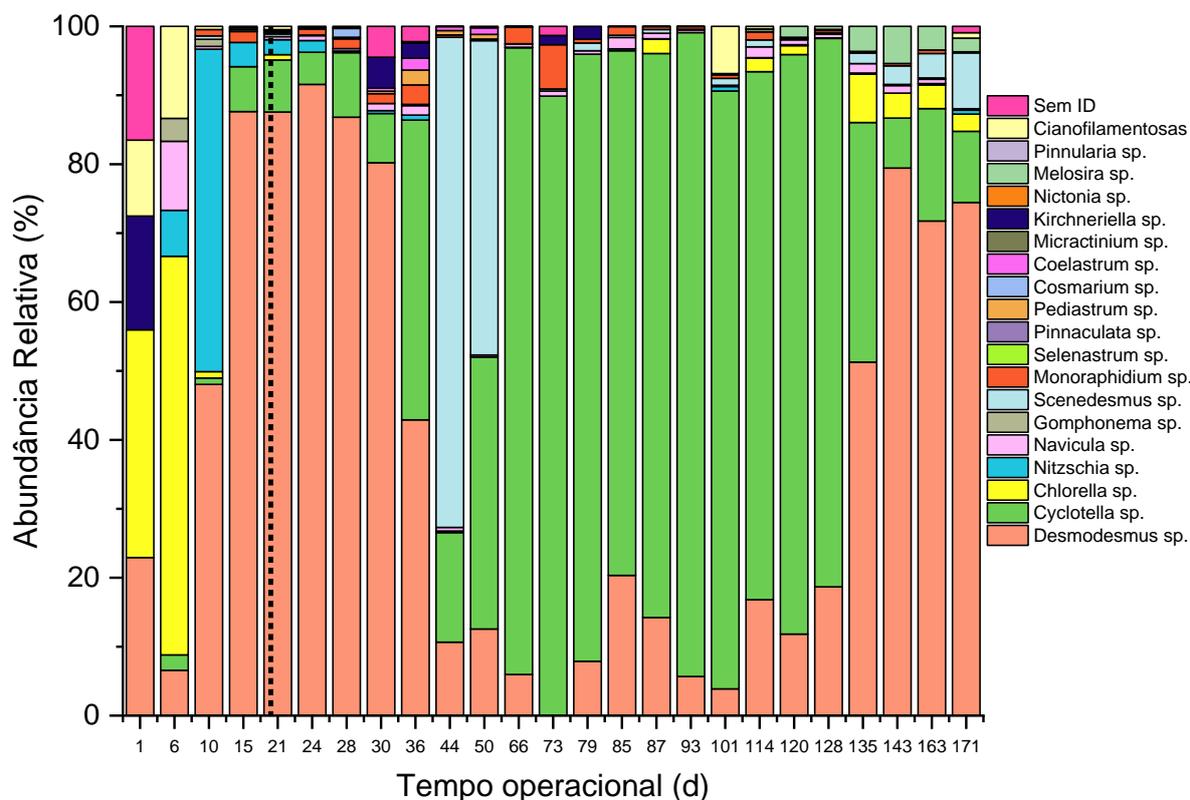
Os dados de sólidos, pH, OD e clorofila encontram-se descritos na figura 2, abaixo. No dia 0, a adição de lodo ativado na lagoa resultou em um valor de SSV inicial de  $279,3 \pm 14,7 \text{ mg.L}^{-1}$ , que decaiu até atingir  $149,0 \pm 12,1 \text{ mg.L}^{-1}$  ao final da fase I (d20). Essa ocorrência é esperada e já foi observada em estudos anteriores (Dos Santos Neto *et al.*, 2021; Sátiro, 2021). É possível que se deva ao decaimento dos níveis de DQO solúvel biodegradável, levando a uma perda na biomassa, visto que a lagoa passou 20 dias sem aporte de matéria orgânica e nutrientes. Os valores de EPS polissacarídeo e proteína no dia 0 foram  $37,3 \pm 2,3$  e  $30,3 \pm 1,7 \text{ mgEPS.gSSV}^{-1}$  e no dia 20, início da fase 2,  $57,87$  e  $94,69 \text{ mgEPS.gSSV}^{-1}$ , respectivamente. Visto que a biomassa no ponto inicial se compõe de lodos ativados, o aumento evidencia a síntese de uma matriz polimérica nova em torno das células.



**Figura 2 – Valores de sólidos suspensos voláteis, clorofila-a/SSV, pH e OD da lagoa de alta taxa ao longo do tempo durante as fases 1 e 2 do monitoramento.**

Durante a fase 1, a concentração de clorofila-a aumentou de  $0,154 \pm 0,027$  (d0) para  $3,465 \pm 0,042 \text{ mg.gSSV}^{-1}$  (d20). O perfil de gêneros de microalgas oscilou entre *Desmodesmus* sp., *Chlorella* sp., *Kirchneriella* sp., *Navicula* sp., *Nitzschia* sp., *Gomphonema* sp. e *Oscillatoria* sp. até, no dia 20, apresentar mais de 90% de predominância de *Desmodesmus* sp. (Figura 3). A predominância de *Desmodesmus* sp. indica uma condição inicial mais favorável a clorofíceas, como já observado em outras pesquisas (Sátiro, 2021; Keshinro *et al.*, 2024).

Como observado na figura 3, abaixo, após o início da fase 2, o gênero *Desmodesmus* sp. rapidamente perdeu dominância até que, do dia 66 ao 128, o gênero de diatomáceas *Cyclotella* sp. passou a responder por aproximadamente 90% da contribuição à abundância relativa. A sucessão ecológica entre as microalgas em sistemas abertos não é novidade. Porém, ao cultivar agregados AMAB em LAT de mesmas especificações desta pesquisa, mesmo esgoto afluente, inóculo de lodo ativado de mesma fonte e em fluxo contínuo, Sátiro (2021) obteve um máximo de 15 dias de predominância do gênero algal *Chlorella* sp. A manutenção de um perfil algal em sistema aberto, sujeito a intempéries, poeira, vento, animais e sazonalidade do meio de cultura durante 60 dias implica em avanços na previsibilidade de sistemas LAT-AMAB, devendo ser investigado mais à fundo com o objetivo de aprimoramento.



**Figura 3 – Abundância relativa dos gêneros de microalgas encontrados ao longo do período de monitoramento da lagoa.**

Após o início da batelada sequencial, o pH do esgoto afluente (aprox. 7,02) induz à presença predominante de bicarbonato no equilíbrio com o  $\text{CO}_2$  (Colman *et al.*, 2002). Em um estudo das formas de captura fotossintética de carbono de *Cyclotella* sp., Colman e Rotatore (1995) demonstraram a presença da enzima carbono anidrase no interior das células, o que aponta a capacidade de assimilação ativa de  $\text{HCO}_3^-$ . Xie *et al.*, 2017) demonstraram produtividade de biomassa de *Desmodesmus* sp. muito acima da média quando usado  $\text{CO}_2$  como fonte de carbono. Em uma grande revisão de 60 anos, 317 artigos científicos e 35 gêneros algais, Granata (2017) concluiu que as diatomáceas avaliadas, o que incluiu *Cyclotella* sp., possuíram taxas de crescimento superiores às clorofíceas em todos os casos, constatação em concordância com Williams e Laurens (2010).

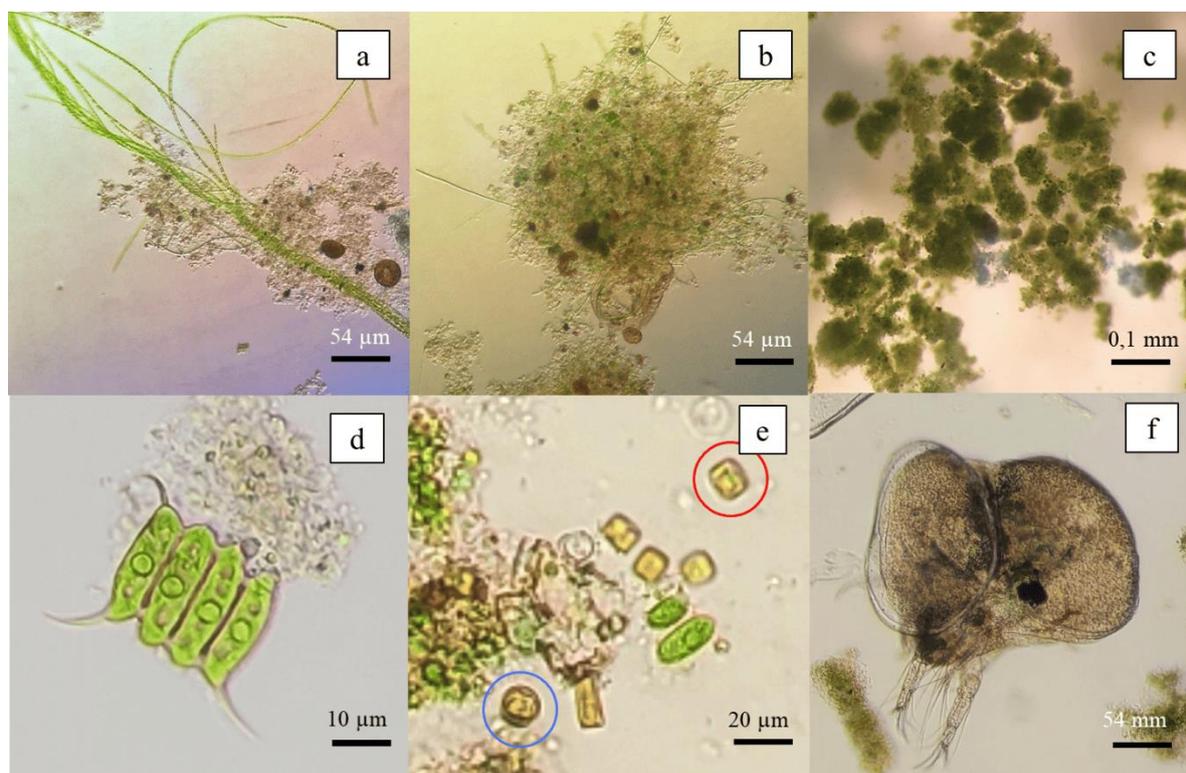
É possível supor que a mistura ativa provocada na biomassa da lagoa em cada ciclo de batelada induziu a suspensão das microalgas bentônicas, como *Cyclotella* sp. (Jimoh; Keshinro; Cowan, 2019). Com acesso à luz, essencial à assimilação ativa de bicarbonato (Colman *et al.*, 2002) o metabolismo das diatomáceas mostrou taxas de crescimento mais elevadas, já observado em estudos anteriores. Além disso, a baixa razão carbono nitrogênio do esgoto afluente, de média 2,23, induz à formação de bactérias nitrificantes, efeito discutido adiante (Soroosh, Otterpohl e Hanelt, 2023). Essas quimioautotróficas necessitam de alcalinidade para se desenvolver,



o que, em associação ao metabolismo versátil de *Cyclotella* sp., manteve níveis descendentes de pH até quase 7,0 no dia 116 (Metcalf; Eddy, 2014).

Entretanto, após o dia 128, a lagoa sofreu com uma infestação de zooplânctons que se caracterizaram por *Daphnia* sp. (74,56%), *Cypridopsis* sp. (22,65%) e outros (2,79%), não excedendo 274 mgSSV.L<sup>-1</sup> (d161) até o fim do experimento no dia 171. LATs que apresentem valores neutros de pH são favoráveis ao aparecimento de zooplânctons (Montemezzani *et al.*, 2015). De acordo com a figura 3, *Cyclotella* sp. foram as mais atacadas, dando lugar à *Desmodesmus* sp., que se caracteriza pela presença de espículas nos grupos de 2, 4, 8 e 16 células. Essas estruturas de defesa evitam o pastoreio (Lee, 2018), o que permitiu que *Desmodesmus* sp. assumisse maior participação na biomassa, elevando razão Clorofila-a/SSV, seu pigmento principal.

À medida que *Desmodesmus* sp. se sucede à *Cyclotella* sp., a biomassa demonstra capacidade preferencial de absorção de CO<sub>2</sub>, de acordo com os estudos citados. Visto que o mecanismo de concentração de carbono de clorofíceas permite o acúmulo até de 180 vezes a quantidade de carbono do meio (Singh; Sundaram; Kishor, 2014), é de se supor que a presença maior de *Desmodesmus* sp. induz o equilíbrio químico  $\text{HCO}_3^- \rightleftharpoons \text{CO}_2 + \text{OH}^+$  para o lado direito por consumir CO<sub>2</sub>, provocando a hidrólise do bicarbonato proveniente do esgoto. O resultado é a elevação do pH após o ataque de zooplânctons, não atingindo valores acima de 10,5, comuns em microalgas (Mata; Martins; Caetano, 2010), provavelmente em razão da atuação das nitrificantes.



**Figura 4 – Microscopias de luz mostrando os flocos AMAB do licor misto da LAT monitorada. Microalgas filamentosas (a) iniciaram o processo de agregação como suporte, gerando flocos bem formados e compactos (b – c) colonizados em maior parte por *Desmodesmus* sp. (d) ou *Cyclotella* sp. (duas espécies diferentes em azul e vermelho) (e). Ao final do experimento, o cultivo sofreu ataques de zooplânctons compostos em sua maioria de *Daphnia* sp. (f).**

Os resultados de nutrientes da Fase II como um todo e o recorte dos dias 66 a 128 se encontram na tabela 1, abaixo. Tendo em vista que o período anterior ao dia 66 envolve a adaptação da biomassa ao sistema e o posterior ao dia 135 sofre do ataque de zooplâncton, o momento de dominância de diatomáceas figura como o melhor reflexo do sistema em um período de estabilidade, sobretudo considerando que se trata de um sistema aberto. As remoções de nitrogênio amoniacal, nitrogênio orgânico, fósforo total e DQO estão de acordo com sistemas

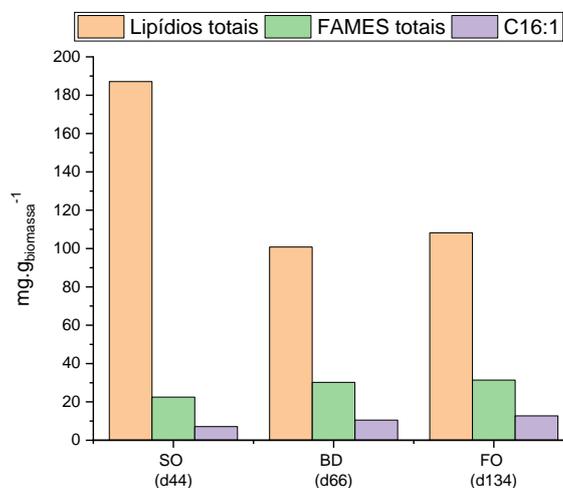
algais bacterianos contínuos em escala real, a exemplo de Sátiro (2021), que obteve 84,15%, 62,69%, 74,67% para nitrogênio amoniacal, fósforo total e DQO.

**Tabela 1 – Desempenho da lagoa durante a Fase II e recorte dos dias 66 a 128.**

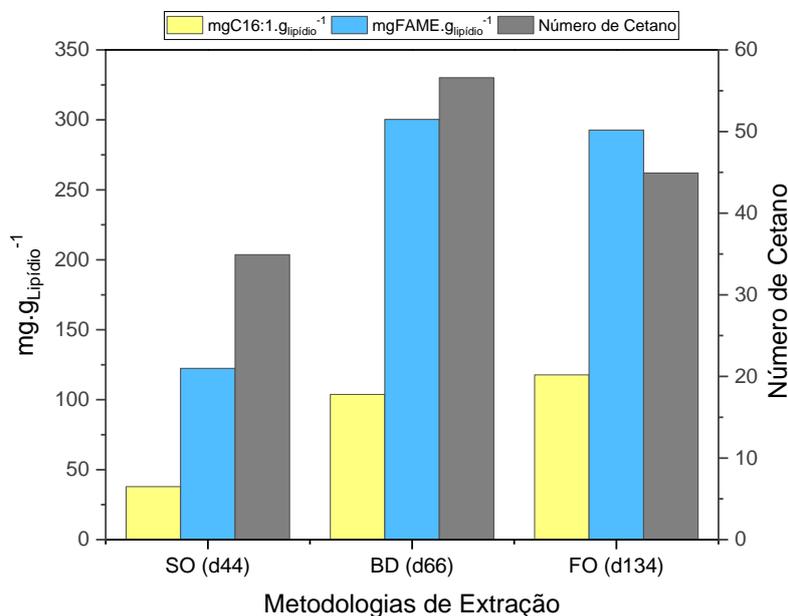
Parâmetro	Fase II			Fase II - Dias 66-128		
	AF (mg.L <sup>-1</sup> )	EF (mg.L <sup>-1</sup> )	Remoção (%)	AF (mg.L <sup>-1</sup> )	EF (mg.L <sup>-1</sup> )	Remoção (%)
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	25,09±0,07	3,56±0,05	85,6±5,6	25,90±2,97	2,51±0,94	92,5±1,8
N <sub>Org</sub>	6,22±1,23	2,17±1,79	65,0±7,2	5,24±1,46	1,74±0,57	66,80±8,1
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	0,03±0,29	1,48±1,32	-	0,06±0,04	0,07±0,03	-
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0,07±0,03	13,96±4,95	-	0,08±0,05	16,44±2,74	-
P <sub>Total</sub>	4,69±0,40	2,96±0,33	36,2±6,9	5,05±0,63	2,93±0,35	41,98±6,7
DQO	138,6±21,8	61,5±15,9	55,6±12,4	152,4±27,7	49,3±11,9	66,6±7,6

Sobretudo no período dos dias 66 a 128, percebe-se que a lagoa apresentou acúmulo de nitrato, efeito já reportado em outros estudos (Van Den Hende *et al.*, 2016; Sátiro, 2021). Provavelmente, as microalgas diatomáceas não assimilaram o nitrato produzido pelas nitrificantes, enquanto o contínuo aporte de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> afluyente ofereceu uma fonte de nitrogênio preferencial às microalgas e que inibe a enzima nitrato-redutase, limitante no processo de assimilação de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (Su, 2021). Além disso, os altos valores de sólidos suspensos alcançados podem induzir ao autossombreamento do cultivo, ocasionando ausência de luz, o que torna o meio propício à nitrificação e dificulta a absorção de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> microalgal, limitada pela luminosidade (Soroosh; Otterpohl; Hanelt, 2023).

A metodologia de extração lipídica SO se mostrou mais produtiva, como observado nos dias 73, 120 e 44, com teores de 150,2, 163,4 e 187,1 mg<sub>lipídio</sub>.g<sub>biomassa</sub><sup>-1</sup>, respectivamente. O máximo obtido para a extração BD foi 100,8 mg<sub>lipídio</sub>.g<sub>biomassa</sub><sup>-1</sup> (d66) e para FO foi 108,2 mg<sub>lipídio</sub>.g<sub>biomassa</sub><sup>-1</sup> (d134) como observado na figura 5. Na figura 6, abaixo, encontra-se as quantidades de FAME total e do metil éster C16:1 (palmitoleato) obtidas nos dias de maior extração lipídica em cada metodologia. Embora a extração SO tenha mostrado maior rendimento que as extrações FO e BD, o teor de FAMES nos extratos é 2,39 e 2,45 vezes maior nesses últimos, respectivamente. Esse efeito, como se observa na figura 5, faz com que as quantidades de FAMES totais e C16:1 sejam mais elevadas no extrato menos produtivos.



**Figura 5 – Teores lipídicos totais máximos, parcela de FAMES e de C16:1 com relação à biomassa seca para os melhores dias de extração de cada metodologia.**



**Figura 6 – Teores de fames e de C16:1 no extrato lipídico nos dias de melhor desempenho de cada metodologia.**

Tendo o C16:1 sido escolhido por ser recomendável para o biodiesel algal, vê-se que se encontra em maior abundância nas extrações de FO e BD, operadas a temperatura ambiente e rápidas, o que representa condição favorável à viabilização do biocombustível. Tal fator, leva ao resultado observado na figura 5, em que os extratos FO e BD demonstram números de cetano bastante elevados, de 44,9 e 56,6, respectivamente. Cabe mencionar que a ANP preconiza um valor mínimo de 42 para o diesel s500 e 48 para o s10, mais refinado e de uso destinado às regiões urbanas (ANP, 2024). Além disso, as extrações FO e BD foram as únicas a atingirem a recomendação europeia de valor de iodo, com excelentes valores de 97,5 e 61,1  $\text{gI}_2.\text{g}^{-1}$ , respectivamente, enquanto SO ficou em 144,5  $\text{gI}_2.\text{g}^{-1}$ .

Além disso, a diferença de tempo entre os resultados mais produtivos indica que cada extração responde a um grupo específico de microalgas, provavelmente em decorrência das especificidades da parede celular (Halim; Danquah; Webley, 2012) ao interagir com os solventes aplicados. Como um todo, a operação em batelada sequencial manteve o sistema aberto relativamente constante e previsível por 60 dias, período em que predominaram microalgas do gênero *Cyclotella* sp., fator promissor, visto que a estabilidade é crucial para a produção de bioenergia de acordo com as demandas locais e nacionais. Sendo assim, as metodologias mais viáveis com o objetivo de extrair FAMES são as de Folch, Lees e Stanley (1957) e Bligh e Dyer (1957) para uma biomassa de AMAB abundante em clorófitas e diatomáceas dentro das condições operadas neste estudo, respectivamente.

## CONCLUSÕES

Foi possível concluir que a operação em batelada sequencial foi capaz de manter um perfil de microalgas estáveis por um período de 60 dias após a estabilização da biomassa, considerado longo para um sistema alga-bactéria aberto sujeito às intempéries e contaminações. Esse fenômeno pode estar diretamente associado aos ciclos de batelada que induziram a suspensão e consequente acesso à luz por microalgas mais sedimentáveis do gênero *Cyclotella* sp.. Além disso, o tratamento que foi empreendido em termos de nitrogênio amoniacal, fósforo e DQO, sobretudo no momento de maior estabilidade, assumiu valores condizentes com a maioria dos estudos com agregados microalga-bactéria, gerando um efluente significativamente mais estabilizado.

Dos dias 66 a 128, encontraram-se os valores de pH mais próximos da neutralidade, fator positivo do ponto de vista de tratamento do efluente. As evidências indicam que o fenômeno tenha se dado em razão da associação



de diatomáceas e bactérias nitrificantes, equilibrando consumo e produção de alcalinidade. Porém, tal grau de neutralidade tornou o meio propício ao surgimento de zooplânctons. Em estudos futuros, deve-se buscar por formas de remediação e controle do pastoreio, focando no gênero *Daphnia sp.* quando em condições semelhantes às aplicadas neste estudo. A esse desafio se soma a necessidade de reduzir, o acúmulo de nitrato na lagoa, provavelmente decorrido da baixa assimilação por parte do gênero *Cyclotella sp.*

Por fim, as três metodologias empreendidas demonstraram picos de eficiência em dias distintos. Apesar de SO indicar maior rendimento de extrato bruto, as extrações com FO e BD geraram um rendimento 2,39x e 2,45x maior em termos de FAMES. Em razão disso, o perfil lipídico das extrações FO e BD demonstrou um desempenho muito melhor que SO, se adequando aos mais atuais padrões de qualidade do biodiesel brasileiro em termos de número de cetano e valor de iodo. Por tratar-se de métodos rápidos e feitos à temperatura ambiente, portanto menos custosos, recomenda-se o uso de extração FO para biomassas ricas em clorofíceas e BD para diatomáceas, essas últimas predominantes na operação em batelada sequencial empreendida no presente trabalho.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALBUQUERQUE, M. S.; SANTOS, S. L.; HAANDEL, A. Influência do regime hidrodinâmico sobre o desempenho de lagoas de polimento. **Revista DAE**, v. 69, n. 229, p. 25–38, fev. 2021.
2. ANP. Agência Nacional de Petróleo, Gás e Biocombustíveis. **Resolução Nº 968, de 30 de abril de 2024**. Estabelece as especificações dos óleos diesel destinados a veículos ou equipamentos dotados de motores do ciclo Diesel e as obrigações quanto ao controle da qualidade a serem atendidas pelos agentes econômicos que comercializam o produto em território nacional. Diário Oficial da União. Brasília, 02 de maio de 2024. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-anp-n-968-de-30-de-abril-de-2024-557405632>. Acesso em: 08 de jul. de 2024.
3. APHA; AWWA; e WEF (ed.). **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 22. ed. Washington (D.C.): American public health association, 2012. 1504 p.
4. ARCILA, J. S.; BUITRÓN, G. Influence of solar irradiance levels on the formation of microalgae-bacteria aggregates for municipal wastewater treatment. **Algal Research**, [s. l.], v. 27, p. 190–197, nov. 2017.
5. BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A RAPID METHOD OF TOTAL LIPID EXTRACTION AND PURIFICATION. **Journal of Biological Chemistry**, v. 226, n. 1, p. 497–509, 1957.
6. BRANDÃO, C. J.; BOTELHO, M. J. C.; SATO, M. I. Z.; LAMPARELLI, M. C. (ed.). **Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos**. Brasília, DF: São Paulo: CETESB; Brasília: ANA, 2011. 326 p.
7. BRENNAN, L.; OWENDE, P. Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 2, p. 557–577, fev. 2010.
8. CHANDRA, R.; IQBAL, H. M. N.; VISHAL, G.; LEE, H.; NAGRA, S. Algal biorefinery: A sustainable approach to valorize algal-based biomass towards multiple product recovery. **Bioresource Technology**, v. 278, p. 346–359, abr. 2019.
9. COLMAN, B.; HUERTAS, I. E.; BHATTI, S.; DASON, J. S. The diversity of inorganic carbon acquisition mechanisms in eukaryotic microalgae. **Functional Plant Biology**, v. 29, n. 3, p. 261, 2002.
10. COLMAN, B.; ROTATORE, C. Photosynthetic inorganic carbon uptake and accumulation in two marine diatoms. **Plant, Cell & Environment**, v. 18, n. 8, p. 919–924, ago. 1995.
11. DOS SANTOS NETO, A. G.; BARRAGÁN-TRINIDAD, M.; FLORÊNCIO, L.; BUITRÓN, G. Strategy for the formation of microalgae-bacteria aggregates in high-rate algal ponds. **Environmental Technology**, [s. l.], v. 44, n. 12, p. 1863–1876, 2021.
12. DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350–356, 1 mar. 1956.
13. FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G. H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **The Journal of biological chemistry**, v. 226, n. 1, p. 497–509, maio 1957.



14. GRANATA, T. Dependency of Microalgal Production on Biomass and the Relationship to Yield and Bioreactor Scale-up for Biofuels: a Statistical Analysis of 60+ Years of Algal Bioreactor Data. **BioEnergy Research**, v. 10, n. 1, p. 267–287, mar. 2017. ISSN 1939-1234, 1939-1242.
15. HALIM, R.; GLADMAN, B.; DANQUAH, M. K.; WEBLEY, P. A. Oil extraction from microalgae for biodiesel production. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 1, p. 178–185, jan. 2011.
16. HALIM, R.; DANQUAH, M. K.; WEBLEY, P. A. Extraction of oil from microalgae for biodiesel production: A review. **Biotechnology Advances**, v. 30, n. 3, p. 709–732, maio 2012.
17. JIMOH, T. A.; KESHINRO, M. O.; COWAN, K. A. Microalgal–Bacterial Flocs and Extracellular Polymeric Substances: Two Essential and Valuable Products of Integrated Algal Pond Systems. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 230, n. 4, p. 95, abr. 2019.
18. KESHINRO, T. A.; KESHINRO, O. M.; TITILAWO, Y.; COWAN, A. K. Aggregation/disaggregation of microalgal-bacterial flocs in high-rate oxidation ponds is a response to biotic/abiotic-induced changes in microbial community structure. **Journal of Applied Phycology**, 8 fev. 2024.
19. LEE, R. E. **Phycology**: 5. ed. Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press, 1 mar. 2018. 551 p.
20. LEONG, W. H.; LIM, J. W.; LAM, M. K.; UEMURA, Y.; HO, C. D.; HO, Y. C. Co-cultivation of activated sludge and microalgae for the simultaneous enhancements of nitrogen-rich wastewater bioremediation and lipid production. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 87, p. 216–224, jun. 2018.
21. LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. PROTEIN MEASUREMENT WITH THE FOLIN PHENOL REAGENT. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, n. 1, p. 265–275, nov. 1951.
22. MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 1, p. 217–232, jan. 2010.
23. METCALF & EDDY (ed.). **Wastewater engineering: treatment and resource recovery**. 5. ed. New York, NY: McGraw-Hill Education, 2014. 2018 p.
24. MONTEMEZZANI, V.; DUGGAN, I. C.; HOGG, I. D.; CRAGGS, R. J. A review of potential methods for zooplankton control in wastewater treatment High Rate Algal Ponds and algal production raceways. **Algal Research**, v. 11, p. 211–226, set. 2015.
25. OKEKE, E. S. *et al.* Microalgae biorefinery: An integrated route for the sustainable production of high-value-added products. **Energy Conversion and Management: X**, v. 16, p. 100323, dez. 2022.
26. SÁTIRO, J. r. **Fatores que influenciam a biofloculação de microalgas em lagoas de alta taxa com esgotos sanitários**. 2021. 124 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2021.
27. SINGH, S. K.; SUNDARAM, S.; KISHOR, K. Carbon-Concentrating Mechanism of Microalgae. *Em*: SINGH, Shailendra Kumar; SUNDARAM, Shanthi; KISHOR, Kaushal. **Photosynthetic Microorganisms**. Cham: Springer International Publishing, 2014. (SpringerBriefs in Materials). p. 63–81.
28. SOROOSH, H.; OTTERPOHL, R.; HANELT, D. Influence of hydraulic retention time on municipal wastewater treatment using microalgae-bacteria flocs in sequencing batch reactors. **Bioresource Technology Reports**, v. 17, p. 100884, fev. 2022.
29. SOROOSH, H.; OTTERPOHL, R.; HANELT, D. Influence of supplementary carbon on reducing the hydraulic retention time in microalgae-bacteria (MaB) treatment of municipal wastewater. **Journal of Water Process Engineering**, v. 51, p. 103447, fev. 2023.
30. SU, Y. Revisiting carbon, nitrogen, and phosphorus metabolisms in microalgae for wastewater treatment. **Science of The Total Environment**, v. 762, p. 144590, mar. 2021.
31. SUN, Z; CHEN, H; SUN, L; WANG, Q. Converting carbon dioxide to high value-added products: Microalgae-based green biomanufacturing. **GCB Bioenergy**, v. 15, n. 4, p. 386–398, abr. 2023.
32. TÜCCAR, G.; AYDIN, K. Evaluation of methyl ester of microalgae oil as fuel in a diesel engine. **Fuel**, v. 112, p. 203–207, out. 2013.
33. VAN DEN HENDE, S.; BEELEN, V.; BORE, G.; BOON, N.; VERVAEREN, H. Up-scaling aquaculture wastewater treatment by microalgal bacterial flocs: From lab reactors to an outdoor raceway pond. **Bioresource Technology**, v. 159, p. 342–354, maio 2014.
34. VAN DEN HENDE, Sofie *et al.* Technical potential of microalgal bacterial floc raceway ponds treating food-industry effluents while producing microalgal bacterial biomass: An outdoor pilot-scale study. **Bioresource Technology**, v. 218, p. 969–979, out. 2016.



35. WILLIAMS, P. J.; Le B.; LAURENS, L. M. L. Microalgae as biodiesel & biomass feedstocks: Review & analysis of the biochemistry, energetics & economics. **Energy & Environmental Science**, v. 3, n. 5, p. 554, 2010.
36. WU, H.; MIAO, X. Biodiesel quality and biochemical changes of microalgae *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus obliquus* in response to nitrate levels. **Bioresource Technology**, v. 170, p. 421–427, out. 2014.
37. XIE, Y. *et al.* Enhancing cell growth and lutein productivity of *Desmodesmus* sp. F51 by optimal utilization of inorganic carbon sources and ammonium salt. **Bioresource Technology**, v. 244, p. 664–671, nov. 2017.